

## HELSINGIN YLIOPISTO - HELSINGFORS UNIVERSITET - UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto - Fakultet/Sektion - Faculty Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Laitos - Institution - Department Farmasian laitos
Tekijä - Författare - Author Jokinen, Irja		
Työn nimi - Arbetets titel - Title Kalsiumin kuljetus ja varastointi sydänlihassolussa		
Oppiaine - Läroämne - Subject Farmakologia		
Työn laji - Arbetets art - Level Pro gradu-työ	Aika - Datum - Month and year Elokuu 1997	Sivumäärä-Sidoantal-Number of pages 95
Tiivistelmä - Referat - Abstract <p>Sydänlihassolun kalsiumkäsittelyllä on merkittävä rooli sydämen supistumis-relaksaatiotoiminnan kannalta, sillä kalsium on tärkein toisiolähetti muutettaessa sähköinen ärsytys sydänlihaksessa mekaaniseksi työksi. Kalsium pääsee soluun solukalvon kalsiumkanavien tai <math>\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}</math>-vaihtajan kautta. Soluun tullut kalsium laukaisee kalsiumin vapautumisen sarkoplasmaattisesta kalvostosta (SR). Näin soluun saatu kalsium aktivoi myofilamentit ja sydänlihas supistuu. Kalsiumia poistetaan solulimasta SR:n ja solukalvon <math>\text{Ca}^{2+}</math>-ATPaasin sekä <math>\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}</math>-vaihtajan avulla. Eri sydänsairauksissa, kuten iskemiassa ja diastolisessa sydämen vajaatoiminnassa, sydänlihassolun kalsiumkäsittely on muuttunut. Solunsisäisten kalsiumpitoisuusmuutosten mittaaminen esim. kalsiumindikaattoreiden avulla antaa hyvin tärkeää tietoa sydänlihassolun kalsiumkäsittelystä. Tätä tietoa voidaan hyödyntää sydänsairauksien hoidossa sekä lääkekehityksessä. Erikoistyössä tutkittiin vaikutusmekanismiltaan tunnettujen aineiden (isoprenaliini, kofeiini, isobutyylimetyyliksantiini (IBMX), ouabaiini ja ryanodiini) vaikutuksia marsun sydämen papillaarilihaksen supistumisvoimaan ja pystytettiin solunsisäisten kalsiumpitoisuusmuutosten mittaamiseen tarvittava laitteisto. Kalsiumindikaattorina käytettiin indo-1:stä. Isoprenaliini adrenergisten <math>\beta</math>-reseptoreiden agonistina vaikuttaa cAMP-välitteisellä mekanismilla aktivoimalla adenylaattisyklaasia <math>G_s</math>-proteiinin kautta. cAMP aktivoi proteiinkininaasi A:n (PKA), joka fosforyloi kalsiumkanavat, fosfolambaanin ja troponiini I:n (TnI). IBMX on fosfodiesterasientsyymien (PDE) estäjä ja siten se lisää cAMP:n pitoisuutta. Myöskin kofeiini on PDE-estäjä, mutta lisäksi se aukaisee SR:n kalsiumkanavan (calcium induced calcium release, CICR). Ryanodiini aukaisee CICR-kanavan alhaisilla pitoisuuksilla (<math>&lt; 30 \mu\text{M}</math>), kun taas korkeammilla pitoisuuksilla se sulkee CICR-kanavan. Sydänglykosidi ouabaiini estää <math>\text{Na}^+/\text{K}^+</math>-ATPaasia, jolloin soluliman natriumpitoisuus (<math>[\text{Na}^+]_i</math>) nousee, mistä seuraa soluliman kalsiumpitoisuuden (<math>[\text{Ca}^{2+}]_i</math>) nousu <math>\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}</math>-vaihtajan kautta. Isoprenaliini lisäsi supistumisvoimaa (max. +392 %, <math>\text{EC}_{50}</math> <math>0,03 \mu\text{M}</math>) samoin kuin IBMX (max. +406 %, <math>\text{EC}_{50}</math> <math>30 \mu\text{M}</math>) ja kofeiini (max. +423 %, <math>\text{EC}_{50}</math> <math>3,5 \text{ mM}</math>). Ryanodiinista käytettiin CICR-kanavaa aukaisevia pitoisuuksia, joilla supistumisvoima heikkeni (max. -58 %, <math>\text{IC}_{50}</math> <math>3 \text{ nM}</math>). Isoprenaliini aiheutti alhaisimmalla pitoisuudella (<math>0,001 \mu\text{M}</math>) selvän supistumisvoiman kasvun, jonka jälkeen seurasi tasannevaihe. Korkeammilla pitoisuuksilla (<math>0,03 - 0,3 \mu\text{M}</math>) supistumisvoima kasvoi huomattavasti lisää. Kofeiinilta ja IBMX:lta tällainen kaksivaiheinen vaikutus supistumisvoimaan puuttui, koska niiden vaikutuksesta <math>G_s</math>-proteiini ei aktivoi suoraan kalsiumkanavia. Lepojännitykseen kofeiinilla ei ollut vaikutusta. Isoprenaliini (max. -33 %), IBMX (max. -18 %) ja ryanodiini (max. -23 %) laskivat sitä. Isoprenaliini (max. -24 %) ja IBMX (max. -29 %) lyhensivät aikaa maksimisupistumisvoimaan, johon kofeiinilla ei puolestaan ollut vaikutusta. Tämä on seurausta kofeiinin CICR-kanavaa aukaisevasta vaikutuksesta. Ryanodiinilla ei ollut vaikutusta relaksaation puoliintumisaikaan. Kofeiini puolestaan lyhensi sitä merkittävästi (max. -22 %), joten kofeiinin cAMP-välitteiset vaikutukset peittivät alleen CICR-kanavan avautumisesta aiheutuvan relaksaation heikentymisen. Myöskin isoprenaliini (max. -21 %) ja IBMX (max. -22 %) nopeuttivat relaksoitumista. Ouabaiinilla ei ollut vaikutusta maksimisupistumisvoiman saavuttamiseen tarvittavaan aikaan eikä relaksaation puoliintumisaikaan, mutta supistumisvoima kasvoi (max. +424 %, <math>\text{EC}_{50}</math> <math>0,7 \mu\text{M}</math>) ja lepojännitys laski (max. -30 %) ouabaiinin vaikutuksesta. Fluorometrilta ei saatu luotettavaa signaalia solunsisäisiä kalsiumpitoisuusmuutoksia mitattaessa eri indo-1-latausliuoskoostumuksilla. Epäluotettavien fluorometrisignaalien syyksi selvisi lopulta fluorometrin eksitaatiovaloa ohjaavan prisman virheellinen kohdistus. Tästä syystä vain murto-osa eksitaatiovalosta pääsi papillaarilihakselle asti, jolloin myös fluorensenssin intensiteetit jäivät niin heikoiksi, ettei niitä kyetty analysoimaan.</p>		
Avainsanat - Nyckelord - Keywords supistumisvoima, indo-1, isoprenaliini, ouabaiini, kofeiini, ryanodiini, IBMX, kalsium, sydänlihassolu		
Säilytyspaikka - Förvaringsställe - Where deposited Farmakologian ja toksikologian osasto / Farmasian laitos		
Muita tietoja - Övriga uppgifter - Additional information		